

تقويم فاعلية عزلتين من الفطر *Beauveria bassiana* (Bals.)Vuill. في مكافحة بعض الآفات الحشرية والحلم واختبار كفاءة بعض أوساط الإكثار

إبراهيم جدوع الجبوري، إسماعيل احمد الزوبعي، سنداب سامي الدهوي
قسم وقاية النبات، كلية الزراعة، جامعة بغداد، العراق.

الملخص

اختبرت عزلتان من الفطر *B. bassiana* الأولى معزولة من يرقة حفار ساق النخيل ذي القرون الطويلة *Jebuseae hammerschmidte* وجدت مينة في جذع نخلة مصابة بالحفارات في منطقة المحاويل / محافظة بابل وأعطيت الرمز BJH، والثانية من تربة في محافظة البصرة أعطيت الرمز Bb على آفات حشرية مختلفة والحلم، وقدرت النسبة المئوية المصححة للموت لكلا العزلتين بعد 1 - 10 أيام من المعاملة بأبواغ الفطر وظهر أنهما ذاتا كفاءة عالية في مكافحة هذه الآفات إذ بلغت النسبة 100% بعد 5 أيام لكل من المن على الخيار وحشرة الأرضة والحشرة القشرية على الحمضيات والزيتون وثرير العنب، وبعد 7 أيام لكل من المن على البطاطا وبارلتوريا النخيل (الحشرة القشرية) وعتة درنات البطاطا وحوريات الذباب الأبيض، وبعد 10 أيام لكل من حفار ساق اللوزيات ويرقات وكاملات الكابنودس. وكانت النسبة المئوية المصححة للموت 100% بعد 7 أيام لكل من الحلم والسونة عند رشهما بأبواغ العزلة BJH و 10 أيام للعزلة Bb. كما اختبرت أوساط إكثار صلبة كان أكثرها إنتاجا للأبواغ وسط بذور الرز 3.2×10^8 بوغ/غرام، وأوساط سائلة أعطى فيها وسط البطاطا والسكروز السائل أكثر عددا للأبواغ 5×10^7 بوغ/مل، كما أمكن إنتاج أبواغ الفطر بتركيز 3.9×10^7 بوغ/مل على وسط الدبس المخفف بالماء.

كلمات مفتاحية: العراق ، الآفة ، القدرة الإراضية ، *Beauveria* , *Jebusea e*

المقدمة

يعد الفطر *Beauveria bassiana* من أقدم المسببات المرضية التي تصيب الحشرات، اكتشفه أوغستينوبازي عام 1885 متطفلا على دودة الحرير ومنذ ذلك الوقت بدأ استعماله في مجال مكافحة الحيوية للآفات (12) وتشير الدراسات الحديثة إلى وجود أكثر من 200 نوعا من الحشرات التي تعود إلى رتب غمدية وحرشفية الأجنحة يستطيع الفطر إصابتها (2) يقوم الفطر بإصابة الحشرة بعدة اليات منها إفرازه لإنزيم protease الذي يحلل البروتينات المعقدة في جسم الحشرة وكذلك إنزيم chitinase الذي يحلل الكايتين الداخل في تركيب جسم الحشرة وإنزيم beauvariein وتسبب هذه السموم قتل الحشرة، ثم يهاجم الفطر الأعضاء الداخلية للحشرة وتبدأ الهيافات بالنمو خارج جدار الجسم وتنتج الكونيديات خلال 24 ساعة من خروج الهيافة (1) مما ينتج عن ذلك مرض خطير يسمى White muscardin disease، استغل هذا المرض على الحشرات وأصبح مسببه ينتج بشكل تجاري عن طريق إنتاج الأبواغ، واستخدم كمبيد حيوي تحت مسميات مختلفة مثل Botanigard E و Botanigard 22WP و Naturalis TDN وغيرها (5) و تختلف كفاءة الفطر باختلاف عزلاته فلكل مستحضر عزلته الخاصة به. يهدف هذا البحث إلى تقويم عزلتين محليتين للفطر الأولى عزلت من يرقة مصابة لحفار ساق النخيل والثانية من التربة على بعض الآفات المهمة وكذلك اختبار كفاءة بعض الأوساط الغذائية لإكثار الفطر بهدف إنتاجه بشكل تجاري.

مواد البحث وطرائقه

1- عزلات الفطر

- أ- العزلة BJH: عزلت من يرقة مصابة لحفار ساق النخيل ذي القرون الطويلة *Jebuseae* *hammerschmidti* في أحد بساتين منطقة المحاويل / محافظة بابل.
ب- العزلة Bb: عزلت من تربة من منطقة الحوطة محافظة البصرة.

نقيت العزلتان على وسط Doberski مكون من (كلوكوز 40 D غم + بيبتون 10 غم + اكار (Agar) 40 غم + 0.01 gm Crystal violet + Ampicilin 1 غم) (4). كثر الفطر على وسط PDA في أطباق زجاجية عند درجة الحرارة 25 ± 1 س لغرض إعداد اللقاح.

2- الاختبارات الحيوية على بعض الآفات

تم تقويم عزلتي الفطر BJH و Bb على بعض الآفات التابعة لرتب حشرية مختلفة وكذلك اللحم حسب الجدول (1).

جدول 1: الافات النباتية التي تم اختبار الفطر *B. bassiana* في مكافحتها

Table 1. Plant pest controlled by *B. bassiana*

العائل النباتي Host plant	الرتبة Order	العائلة Family	الاسم العلمي Scientific name	الافة Pest
<i>Hibiscus</i> spp.	Acarina	Tetranychidae	<i>Tetranychus</i> spp.	الحلم Mites
الخيار Cucumber	Homoptera	Aphididae	<i>Aphis gossypii</i>	المن Aphid
البطاطا Potato	Homoptera	Aphididae	<i>Myzus persica</i>	المن Aphid
النخيل Date Palm	Homoptera	Coccidae	<i>Parlatoria blanchardi</i>	الحشرة القشرية Scale insect
الحمضيات والزيتون Citrus and Olive	Homoptera	Diaspididae	<i>Aonidella orientalis</i>	الحشرة القشرية Scale insect
البرتقال Orange	Homoptera	Aleyrodidae	<i>Bemisia tabaci</i>	الذبابة البيضاء White fly
المشمش Apricot	Coleoptera	Buprestidae	<i>Chalcophorella bagdadensis</i>	حفار ساق اللوزيات Stone Fruit borer
الرمان Pomegranate	Coleoptera	Buprestidae	<i>Capnodis miliaris</i>	يرقات وبالغات حفارات السيقان Capnodis larvae and adult
سيقان الرمان والمشمش Apricot and Pomegranate stem	Isoptera	Termitidae	<i>Microcerotermes diversus</i>	الارضة Termite
البطاطا Potato	Lepidoptera	Gellechiidae	<i>Phthorimaea operculella</i>	عثة درنات البطاطا Potato tuber moth
القمح Wheat	Hemiptera	Pentatomidae	<i>Eurygaster integriceps</i>	السونة Sunn pest
العنب Grape	Thysanoptera	Thripidae	<i>Retithrips syriacus</i>	ثريس العنب Grape thrips

- أ- طريقة الاختبار للأفات (الحلم والمن والحشرات القشرية والثربس والذبابة البيضاء و عثة درنات البطاطا). هيت أطباق بلاستيكية قطرها 9سم وسمك 1.5 سم وضعت فيها طبقة من القطن الطبي المرطب بالماء ثم وضعت عليها أوراق العائل النباتي المبين في (جدول 1) إزاء كل آفة بعد تعقيم هذه الأوراق بمحلول الفورمالين تركيز 0.01% وذلك بتغطيسها فيه لمدة 10 دقائق لتفادي نمو الأحياء المجهرية عليها ثم نقل إلى كل طبق 10 أفراد من الآفة المراد معاملتها بواقع ثلاثة أطباق لكل معاملة.
- ب- طريقة الاختبار بالنسبة للأفات (الأرضة وحفار ساق الرمان والمشمش وحشرة السونة).
- وضعت قطع السيقان المصابة داخل أطباق زجاجية بقطر 20سم وسمك 7 سم ثلاثة أطباق لكل معاملة. عولمت الأطباق في الفقرة أ و ب بمحلول عزلتي الفطر *B. bassiana* المنميتان على وسط PDA لمدة أسبوع عند درجة حرارة 25 ± 1 س بتركيز $10 \times 5 \times 10^7$ بوغ/مل (16,14) باستعمال رشاش يدوي سعة 1 لتر ورشت المقارنة بالماء فقط، حفظت الأطباق عند درجة حرارة 25 ± 1 س ورطوبة 85-90% سجلت نسبة القتل بعد 1 و 3 و 5 و 7 و 10 أيام من المعاملة وصححت النسبة حسب معادلة (3 Abbot) حلت النتائج وفق التصميم الاحصائي CRD ضمن التجارب العملية.

3- اختبار اوساط الاكثار للفطر

- أ- وسط بذور الرز: تم وزن 200 غم رز ووضع في دوارق زجاجية سعة 500 مل أضيفت له كمية من الماء حتى تم تغطيته بالكامل عمق الوسط في جهاز التعقيم البخاري Autoclave لمدة نصف ساعة وأضيف له المضاد الحيوي امينسلين تركيز 200 جزء بالمليون. نقلت اقراص من مستعمرة الفطر بقطر 5ملم بعمر 7 أيام بواقع 3 اقراص لكل دورق ثم حفظت عند درجة حرارة 25 ± 1 س لمدة 21 يوماً. تم حساب تركيز الأبواغ بالمل الواحد باستعمال شريح العد الهيموسايتوميتر (9).
- ب- وسط بذور السيسان *Sesbania spp.*: أجريت العملية نفسها من تحضير الوسط والتحصين وقياس تركيز السبورات كما ورد في أعلاه.
- ج- وسط البطاطا والسكروز السائل Potato sucrose broth: تم وزن 200غم بطاطا قشرت وهرست وأخذ الراشح وأضيف له 10غم سكروز وأكمل الحجم إلى 1 لتر قسم إلى 5 دوارق في كل منها 200مل وعم وبرد وأضيف له إمينسلين ونقل إليه 3 أقراص بقطر 5ملم من مستعمرة الفطر وحفظت عند درجة حرارة 25 ± 1 س لمدة 21 يوماً وتم حساب تركيز الأبواغ.
- د- وسط الدبس المخفف بالماء Date palm extract media: حضرت ثلاثة تراكيز من الدبس 2.5% و 5% و 12.5% وزعت على ثلاثة دوارق لكل تركيز ثم عقت وبردت وأضيف لها المضاد الحيوي امينسلين ولقحت بالفطر وحضنت كما مر سابقاً.

النتائج والمناقشة

الاختبارات الحيوية للأفات

تشير النتائج (جدول 2) إلى أن الآفات كافة تأثرت بشدة بعزلتي الفطر *B. bassiana* وهذا يتفق مع معظم الباحثين بأن الفطر يسبب أمراضاً على مدى واسع من الآفات (10,6).

أشارت نتائج التحليل الإحصائي إلى وجود فروق معنوية بين عزلتي الفطر من ناحية مجموع التأثير على الآفات المدروسة إذ تفوقت العزلة Bb على العزلة BJH لكن الأخيرة تفوقت في سرعة القتل بالنسبة للحلم والسونة إذ حققت نسبة قتل 100% بعد 7 أيام قياساً إلى العزلة Bb إذ حققت هذه النسبة لكن بعد 10 أيام وهذا يعود إلى اختلاف خبائة (virulence) العزلة وهذا ماوجه (14,11) إن لاختلاف العزلة دور فعال في إمرضيتها على الآفة. كما أشارت النتائج أن عزلتي الفطر حققت نسبة موت بلغت 100% بعد 5 أيام لكل من المن على الخيار والحشرة القشرية على الحمضيات والزيتون والأرضة وثربس العنب وبعد 7 أيام لكل من المن على البطاطا وبارلتوريا النخيل والذبابة البيضاء و عثة درنات البطاطا، وبعد 10 أيام لكل من حفار ساق اللوزيات ويرقات وبالغات الكابنودس.

جدول 2: تأثير عزلتي الفطر *B. bassiana* في النسبة المئوية المصححة للموت للآفات بعد 1-10 أيام من المعاملة بأبواغ الفطر

النسب المئوية المصححة للموت بعد التلقيح بأبواغ الفطر					العزلة	الآفة
10 يوم 10days	7 يوم 7days	5 يوم 5days	3 يوم 3days	1 يوم 1day		
-	100	46.6	0	0	BJH	الحلم
100	50	16.6	0	0	Bb	<i>Tetranychus spp</i>
-	-	100	23.3	0	BJH	المن على الخيار
-	-	100	30	0	Bb	<i>Aphis gossypii</i>
-	100	53.3	26.6	0	BJH	المن على البطاطا
-	100	46.6	23.3	0	Bb	<i>Myzus persica</i>
-	100	93.3	23.3	0	BJH	بارلتوريا النخيل
-	100	96.6	13.3	0	Bb	<i>Parlatoria blanchardi</i>
-	-	100	16.6	0	BJH	الحشرة القشرية على الحمضيات
-	-	100	30	0	Bb	<i>Aonidella orientalis</i>
-	-	100	46.6	0	BJH	الحشرة القشرية على الزيتون
-	-	100	53.3	0	Bb	<i>Aonidella orientalis</i>
-	100	86.6	33.3	0	BJH	الذبابة البيضاء
-	100	80	33.3	0	Bb	<i>Bemisia tabaci</i>
100	73.3	43.3	0	0	BJH	حفار ساق اللوزيات
100	83.3	66.6	26.6	0	Bb	<i>Chalcophorella bagdadensis</i>
100	90	43.3	13.3	0	BJH	يرقات الكابنودس
100	93.3	70	26.6	0	Bb	<i>Capnodis miliaris</i>
100	70	33.3	0	0	BJH	بالغات الكابنودس
100	83.3	50	0	0	Bb	<i>Capnodis miliaris</i>
-	-	100	26.6	0	BJH	الأرضة
-	-	100	43.3	0	Bb	<i>Microcerotermes diversus</i>
-	100	73.3	30	0	BJH	عثة درنات البطاطا
-	100	76.6	26.6	0	Bb	<i>Phthorimaea operculella</i>
-	100	26.6	0	0	BJH	السونة
100	96.6	20	0	0	Bb	<i>Eurygaster integriceps</i>
-	-	100	26.6	0	BJH	ثربس العنب
-	-	100	46.6	0	Bb	<i>Retithrips syriacus</i>

ونلاحظ من النتائج أن هنالك اختلافاً في المدة التي يحتاجها الفطر إلى قتل أفراد الآفة كافة وهذا يعتمد على مجمل عوامل أهمها هو طبيعة التركيب الفيزيائي للجدار الخارجي للآفة إذ نلاحظ أن الحشرات التي تمتاز بطبيعة جدار صلبة كالحشرات التي تعود إلى غمدية الأجنحة Coleoptera (جدول 1) (حفار ساق اللوزيات و يرقات وكاملات الكابنودس) يحتاج الفطر فيها إلى وقت أطول للوصول إلى نسبة موت 100%، أما الحشرات التي لها جدار أقل صلابة كالتى تعود إلى متشابهة الأجنحة Homoptera (المن والحشرات القشرية) فإن الفطر يستغرق وقتاً أقل للقضاء عليها وهذا يتفق مع ما وجدته (15, 17) من أن هنالك علاقة عكسية بين نسبة الهلاك وتقدم عمر حشرة حفار ساق الذرة الأوربي *Ostrinia nubilalis* عند المعاملة بالفطر *B. bassiana* إذ بتقدم عمر الحشرة تزداد صلابة جدار جسمها مما يؤدي إلى ضعف

اخترق الفطر. وهناك عامل آخر هو طبيعة معيشة الحشرة إذ أن الحشرات القشرية تتغذى بطبقة من الشمع وتوفر هذه الطبقة مناخاً دقيقاً مناسباً للفطر من خلال ارتفاع نسبة الرطوبة التي تعد عاملاً مهماً في حدوث الإنبات لأبواغ الفطر وبالتالي زيادة احتمال الاختراق ثم الإصابة وهذا ما أشار إليه (13،8) بأن نسبة الإصابة بالفطر ترتفع بزيادة الرطوبة

كما أن للتركيب الكيميائي لجدار الحشرة تأثيراً في تطفل الفطر من خلال التأثير في عملية الاختراق إذ أن الأخير يرتبط بنوع الغذاء الموجود، إذ لاحظ (7) أن الفطر ينبت على دودة براعم الذرة *Heliothis zea* نتيجة لتواجد الأحماض الأمينية الأولية. وأظهرت النتائج أن هنالك تناسباً طردياً بين نسبة القتل وزيادة الوقت إذ بدأ الفطر بإظهار تأثيره بعد 3 أيام من المعاملة وازداد بعد ذلك وهذا يتفق مع الباحثين، (5) اختبار اوساط الإكثار

أظهرت النتائج في (جدول 3) أن الأوساط الصلبة كانت أكثر إنتاجاً للأبواغ من الأوساط السائلة إذ حقق وسط بذور الرز والسيبسان عدداً بلغ 10×3.2 و 10×2.6 بوغ/غم على التوالي في حين أن أعلى تركيز وصلت له الأوساط السائلة هو 10×5 و ذلك يعود إلى طبيعة الوسط إذ أن الأوساط الصلبة توفر مساحة سطحية كبيرة للفطر لينمو ويكون وحداته التكاثرية مقارنة بالأوساط السائلة إذ أن الفطر ينمو على السطح العلوي للوسط فقط وبذلك فإن وحداته التكاثرية تكون أقل، فضلاً عن إن مكونات الوسط الصلب تبقى كما هي حين إعداد الوسط بفضل وجود البذور مما يوفر تغذية جيدة للفطر وهذا ما لا يمكن توفيره في الوسط السائل. كما ويمكن التحكم بعدد الأبواغ بزيادة المساحة السطحية للوسط السائل. وبيّنت النتائج أنه يمكن استخدام مادة الدبس المتوفرة في البلد بشكل كبير بعد تخفيفها بالماء كبديل للأوساط الأخرى إذ بلغ إنتاج الأبواغ فيها 10×3.9 بوغ/مل كما ويمكن استخدام بذور نبات السيبسان كبديل لبذور الرز في عمليات إكثار الفطر.

جدول 3: عدد ابواغ الفطر *B. bassiana* في اساط اكثار صلبة وسائلة.

عدد الأبواغ في 1 مل، غم	وسط الإكثار
10×3.2	بذور الرز
10×2.6	بذور السيبسان
10×5	البطاطا والسكر السائل
10×2.26	الدبس السائل 2.5%
10×1.5	الدبس السائل 5%
10×3.9	الدبس السائل 12.5%

المراجع

- 1- الباروني، محمد ابو مرداس وعصمت محمد حجازي. 1994. مكافحة الحويبة - ممرضات الحشرات - الجزء الثاني - منشورات جامعة عمر المختار. ليبيا. 635.
- 2- حنونيك، سليم بولص، محمد سعيد الجارحي، منصور ابراهيم منصور، سعيد البغام، علي شاميه، صلاح عبدالله وسعيد العواش. (2000) استخدام الفطر الممرض للحشرات *Beauveria bassiana* كعنصر هام في الإدارة المتكاملة لحشرة سوسة النخيل الحمراء في الحقل. مجلة الزراعة والتنمية في الوطن العربي. 1: 37 - 44.
- 3- Abbot, 1925. Method of the effectiveness of an insecticide. J.Econ Entomol. 18:265-267
- 4- Doberski, J.W. and H.T. Tribe 1980. Isolation of entomogenous fungi from elm bark and soil with reference to ecology of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae*. Trans. Brit. Mycol. Soc. 74:95-100.
- 5- Ellie, G. and O. Maine, 2001. Using *Beauveria bassiana* for insect management. United State Department of Agriculture. Agricultural Research Service. 94-97.

- 6- Evan, H.C.1982.Entomogenous fungi in tropical forest ecosystem: an appraisal.Ecol.Entomol.7:47-60.
- 7- Grula, E.A., S.P. Wood , and H. Russell, 1984.Studies utilizing *Beauveria bassiana* an entomopathogen in infection processes of fungi.(Eds.D.W.Robertsand J.R.Aist). Publs.Rockefeller. fdn.147-152.
- 8- Hu,M.1985. An investigation on control of *Gryllotalpa africana* by *Beauveria bassiana* and *Labidura* spp. Natural enemies of insects , China.7(2):110-112.
- 9- Lacey ,L.A.1997.Manual of techniques in insect pathology.Academic press. Santiago.ca.409pp.
- 10- Madiling ,M.F.1966.Fungal parasites insects Ann.Rev.of Entomol.11:423-448.
- 11- Michel ,B.1981 Recherches experimentals surla penetration des chaupi guons pathogens chezles insects. These 3e cycle. Univ.sci. Tech. Languedoc. cited from: Samson ,A.R. ,Evan,C. and Latge , L. 1988. Atlas of entomopathogenic fungi.printed in the Netherlands , New York.187pp.
- 12- Michael , J. P. and R. Rogerd , 1972. Microbiology.Third edition.printed in United states of American.665-666.
- 13- Riba ,G. And S. Marcandier 1984. The effect of relative humidity on the virulence and viability of conidia of *Beauveria bassiana* , *Metarhizium anisopliae*. Agronomic.4(2):189-194.
- 14- Smith ,K.E., R. Wall, and M.P. French , 2000.The use of entomopathogenic fungi for the control of parasitic mites *Psoroptes* spp. Vet. Parasitolo.92 (2):97-105.
- 15- Story, G.K., W.A. Grander, and E.W. Tollner, 1989. Penetration and persistence of commercially formulated *Beauveria bassiana* conidia in soil of two tillage systems.Environ.Entomol.18:835-839.
- 16- Townsend , T.R., Glare and B.E. Willoughby. 1995. The fungi *Beauveria* spp. cause epizootics in grass grub population in Waikato.the New Zealand Plant Protection Society incorporated.
- 17- Vannien ,I., J. Tyni-Juslin, and H. Hokkanen, 2000.Persistance of augmental *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* , in Finnish agricultural soil. Biocontrol. 45(2):201-222.

Evaluation of two isolates of *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. against some insects and mites and testing the efficiency of some culture media

Ibrahim J. Al-Jboory , Ismail A. Ismail , and Sendab S.Al-Dahwe

University of Baghdad, College of Agriculture, Plant Protection Department, Baghdad, Iraq

E-mail:ijboory@yahoo.com

Abstract

Two isolates of *Beauveria bassiana* were isolated from long horned date palm stem borer *Jebuseae hammerschmidtii* (BJH) from Mahaweel (Babel) area and date palm orchard soil in Basra (Bb). The efficacy and pathogenesis of both isolates have been tested on different insects and mites 1-10 days after spore spray. Both isolates showed 100% mortality after 5 days on cucumber aphids, termites, scale insects on citrus and olive and grape thrips. The mortality reached 100% on potato aphids, parlatoria scale insects and potato tuber moth after 7 days of spore spray and on stone fruit borers and capnodis larvae and adults after 10 days. The mortality on sunn pests was 100% after 7 days when sprayed by BJH and after 10 days for Bb however, it was 100 % after 7 days on mite for BJH and 10 days for Bb. Several solid and liquid production cultures have been tested and found that rice seed culture produced 3.2×10^8 spores /gm while potato sucrose broth and dates extract (Debis) cultures produced 5×10^7 and 3.9×10^7 spores/ml respectively.

Key words: *Beauveria* , *Jebuseae* , pathogenesis , efficacy , pests , Iraq